

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
30. Mai 2003 (30.05.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/044537 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G01N 35/00**,
33/543, B03C 1/04

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AU, BR, BY, CA, CN,
CO, HU, IL, IN, JP, KR, LT, LV, MX, NO, NZ, PH, PL,
RO, RU, SG, SI, TR, US, YU, ZA.

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/12411

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT,
BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,
IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR).

(22) Internationales Anmeldedatum:
7. November 2002 (07.11.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

Erklärungen gemäß Regel 4.17:

— hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu
beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii) für die
folgenden Bestimmungsstaaten AU, BR, BY, CA, CN, CO,
HU, IL, IN, JP, KR, LT, LV, MX, NO, NZ, PH, PL, RO, RU,
SG, SI, TR, YU, ZA, europäisches Patent (AT, BE, BG, CH,
CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE, SK, TR)
— Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 56 790.1 19. November 2001 (19.11.2001) DE

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht
— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): **CHEMAGEN BIOPOLYMER-TECHNOLO-
GIE AG** [DE/DE]; Arnold-Sommerfeld-Ring 2, 52499
Baesweiler (DE).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **BRASSARD, Lothar**
[DE/DE]; Haagwinkel 9, 52525 Heinsberg (DE).

(74) Anwalt: **FLACCUS, Rolf-Dieter**; Bussardweg 10, 50389
Wesseling (DE).

(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR TREATING MAGNETIC PARTICLES

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUM BEHANDELN VON MAGNETPARTIKELN

(57) Abstract: The invention relates to a device for treating particles (3) in a liquid which are magnetisable or can be magnetically attracted. Said device comprises a holding element (1) for at least one reaction vessel (2) containing the liquid containing the particles, at least two permanent magnets (10,20) which are arranged in a mobile manner, and a drive unit (4) for displacing the permanent magnets (10,20). Said permanent magnets (10,20) are arranged in pairs and opposite each other and can be displaced in the vertical direction (a, b). The distance between the two permanent magnets (10,20) of a pair is measured or can be adjusted in such a way that a reaction vessel (2) can be positioned between the same.

(57) Zusammenfassung: Vorrichtung zum Behandeln von magnetisierbaren oder magnetisch anziehbaren, in einer Flüssigkeit vorliegenden Partikeln (3), umfassend eine Halterung (1) für ein oder mehrere Reaktionsgefäß(e) (2) mit der die Partikel enthaltenden Flüssigkeit, mindestens zwei beweglich angeordnete Permanentmagnete (10,20), eine Antriebseinheit (4) zum Bewegen der Permanentmagneten (10,20), wobei die Permanentmagnete (10,20) paarweise und einander gegenüberliegend angeordnet sind und in vertikaler Richtung (a, b) bewegbar sind und der Abstand zwischen den zwei Permanentmagneten (10,20) eines Paares so bemessen oder einstellbar ist, dass ein Reaktionsgefäß (2) zwischen diesen positioniert werden kann.

WO 03/044537 A1

Vorrichtung und Verfahren zum Behandeln von Magnetpartikeln

Die Erfindung bezieht sich auf Vorrichtungen und Verfahren
5 zum Behandeln von magnetisierbaren oder magnetisch anzieh-
baren Partikeln (Magnetpartikeln). Sie bezieht sich insbe-
sondere auf Magnetpartikel, die spezifische Bindungseigen-
schaften für bestimmte Substanzen aufweisen und zur Abtren-
nung dieser Substanzen aus komplexen Gemischen verwendet
10 werden.

Die Methode der Abtrennung von Substanzen unter Verwendung
von Magnetpartikeln ist sehr vielseitig einsetzbar, da der-
artige Magnetpartikel mit den unterschiedlichsten Bindungs-
15 eigenschaften ausgestattet werden können. Beispielsweise
können sie zur sequenzspezifischen Isolierung von Nuklein-
säuren oder bei immunologischen Assays, die auf Antigen-
Antikörper-Bindung beruhen, eingesetzt werden.

Verfahren, die auf der magnetischen Abtrennung unter Ver-
20 wendung von spezifisch bindenden, magnetisch anziehbaren
Partikeln beruhen, erlangen im Bereich der Probenvorberei-
tung für diagnostische oder analytische Untersuchungen zu-
nehmende Bedeutung. Dies gilt insbesondere für automati-
sierte Verfahren, da auf diese Weise eine große Anzahl von
25 Proben innerhalb kurzer Zeit analysiert werden können. Da-
durch werden die Voraussetzungen für ein effizientes Scree-
ning mit einem hohen Proben-Durchsatz geschaffen. Dies ist
beispielsweise für Anwendungen bei molekulargenetischen
Studien oder auf dem Gebiet der genetischen Diagnostik von
30 enormer Bedeutung, da eine rein manuelle Handhabung von
sehr großen Probenzahlen praktisch nicht zu bewältigen ist.

Das Grundprinzip der magnetischen Abtrennung von Substanzen
aus komplexen Gemischen ist denkbar einfach. Magnetische
35 Partikel (magnetisierbare bzw. magnetisch anziehbare Parti-

- kel) werden in spezifischer Weise für den beabsichtigten Separationsprozeß funktionalisiert, d. h. sie werden durch chemische Behandlung mit spezifischen Bindungseigenschaften für die abzutrennenden Zielsubstanzen ausgestattet. Für bestimmte häufig auftretende Anwendungszwecke sind derartige funktionalisierte Magnetpartikel auch kommerziell erhältlich. Die Größe solcher Magnetpartikel liegt im allgemeinen im Größenbereich von ca. 0,05 bis 500 µm.
- 10 In einem ersten Schritt ("Bindungs-Schritt") des bekannten Trennverfahrens werden die genannten funktionalisierten Magnetpartikel in einem Reaktionsgefäß zu einem aufzureinigenden (Ausgangs-) Gemisch hinzugegeben, das die Zielsubstanz(en) in einer Flüssigkeit enthält, welche die Bindung der Zielsubstanz-Moleküle an die Magnetpartikel begünstigt (Bindungspuffer bzw. Bindungs-Flüssigkeit). Dadurch kommt es zu einer selektiven Bindung der im Gemisch vorhandenen Zielsubstanz(en) an den/die Magnetpartikel (= Bindungsschritt). Da die Bindungsreaktion in der Regel zeitabhängig verläuft, muß der Bindungs-Schritt über einen bestimmten Zeitraum hinweg durchgeführt werden, um eine möglichst vollständige Bindung der vorhandenen Zielsubstanz-Moleküle an die Magnetpartikel zu erreichen. Problematisch ist dabei, daß die Magnetpartikel aufgrund der gravimetrischen Kräfte dazu neigen, zu sedimentieren. Dadurch wird die Effizienz der Bindung von Zielgruppen-Molekülen an die Magnetpartikel beeinträchtigt, vor allem aufgrund der eingeschränkten Diffusion.
- 30 Anschließend werden diese Magnetpartikel durch Anwendung magnetischer Kräfte bzw. eines Magnetfeldes, beispielsweise mittels eines Permanentmagneten, an einer Stelle der Reaktionsgefäß-Innenwand immobilisiert (reversibel) und bilden dort in der Regel ein "Pellet".

Nachfolgend wird der flüssige Überstand abgetrennt und verworfen, beispielsweise durch Absaugen oder Dekantieren. Da die Magnetpartikel auf die genannte Weise immobilisiert sind, wird weitgehend verhindert, daß diese Partikel mit dem Überstand abgetrennt werden.

Auf diesen Bindungsschritt folgt in der Regel ein (oder mehrere) Waschschrift(e), wobei das Pellet der Magnetpartikel in einer geeigneten Waschflüssigkeit resuspendiert und mit dieser vermischt wird. Die Waschflüssigkeit und die Bedingungen des Waschens werden so ausgewählt, daß die spezifische Bindung der Zielsubstanz an die Magnetpartikel nicht beeinträchtigt wird. Dadurch wird durch das Waschen eine Abtrennung unspezifisch gebundener Substanzen bewirkt und letztendlich die Reinheit der abzutrennenden Zielsubstanz erhöht. Wie zuvor für den Bindungsschritt beschrieben, wird auch nach dem/den Waschschrift(en) der Überstand (d. h. die Waschflüssigkeit) nach Immobilisieren der Magnetpartikel abgetrennt und verworfen.

In dem auf den/die Waschschrift(e) folgenden Elutionsschritt werden die als Pellet immobilisierten Magnetpartikel erneut resuspendiert. Dabei wird eine Elutionsflüssigkeit bzw. ein Elutionspuffer verwendet, der geeignet ist, die Bindung zwischen der/den Zielsubstanz(en) und den Magnetpartikeln zu lösen, so daß die Zielsubstanz-Moleküle von den Magnetpartikeln freigesetzt werden und mit der Elutionsflüssigkeit abgetrennt werden können. Während des Abtrennens der Elutionsflüssigkeit werden die Magnetpartikel immobilisiert, wie oben beschrieben.

Die Zusammensetzungen der bei diesen Trennverfahren eingesetzten Bindungs-, Wasch- und Elutionsflüssigkeiten sind dem Fachmann bekannt oder können im Einzelfall durch einfache Vorversuche ermittelt werden.

Der Vorgang des Resuspendierens der immobilisierten Magnetpartikel (Magnetpartikel-Pellet) hat einen entscheidenden Einfluß auf die Reinheit und Ausbeute der abzutrennenden Zielsubstanzen (das Separationsprodukt).

Wenn die Magnetpartikel während des Waschens nur ungenügend resuspendiert werden und Agglomerate von Partikeln zurückbleiben, hat dies zur Folge, daß das Waschen ineffizient ist und die beabsichtigte Abtrennung unspezifisch gebundener Verunreinigungen nicht oder in nicht ausreichendem Maße stattfindet. Die Reinheit der abgetrennten Zielsubstanzen bzw. des Separationsprodukts ist in diesem Fall von minderer Qualität.

Wenn die Magnetpartikel während des Elutionsschrittes nicht vollständig oder nur ungenügend resuspendiert werden, hat dies zur Folge, daß die Elution nur unvollständig von statuten geht, so daß lediglich ein Teil der an die Magnetpartikel gebundenen Zielsubstanzen von den Partikeln gelöst wird, während ein anderer Teil daran gebunden bleibt und nicht in die Elutionsflüssigkeit übertritt. Dadurch wird die Ausbeute mehr oder weniger stark vermindert, was insbesondere dann nachteilig ist, wenn die abzutrennenden Zielsubstanzen nur in sehr geringen Konzentrationen in dem untersuchten Ausgangsgemisch enthalten sind.

Besonders ungünstig ist es, wenn infolge ungenügenden Resuspendierens während des Waschens und während des Eluierens sowohl die Reinheit als auch die Ausbeute des abzutrennenden Produkts vermindert werden.

Der Vorgang des Resuspendierens ist insbesondere dann problematisch, wenn der oben beschriebene Ablauf des Trennverfahrens mittels automatisierter Vorrichtungen durchgeführt wird, die einen hohen Probendurchsatz ermöglichen sollen.

Das Resuspendieren wird zusätzlich dadurch erschwert, daß die Probenvolumina bzw. die verwendeten Reaktionsgefäße sehr klein sind (Miniaturisierung). Zudem soll die Resuspendierung innerhalb eines möglichst kurzen Zeitraums erfolgen, um einen hohen Probendurchsatz zu gewährleisten.

Das Resuspendieren kann beispielsweise dadurch bewirkt werden, daß die über dem Magnetpartikel-Pellet befindliche Flüssigkeit mehrfach auf- und abpipettiert wird, bis das Pellet zerfällt und die Partikel in der Flüssigkeit verteilt sind. Allerdings werden für diesen Vorgang zusätzliche Einmal-Pipettenspitzen verbraucht, was angesichts der hohen Probenzahlen zu deutlichen Mehrkosten führt.

Eine andere bekannte Möglichkeit besteht darin, sich bewegende (z. B. rotierende) Rühr-Elemente, wie z. B. Permanentmagnet-Stäbe, in die Reaktionsgefäße einzutauchen und auf diese Weise einen Zerfall des Pellets und eine Durchmischung und Resuspendierung herbeizuführen. Für sehr kleine Probenvolumina, wie sie bei Hochdurchsatz-Screeningverfahren verwendet werden, ist diese Methode des Resuspendierens nur bedingt geeignet, da das eintauchende Rühr-Element zusätzlichen Raum benötigt. Außerdem kann das Eintauchen das nachfolgende Herausnehmen der genannten Rühr-Elemente zu Verlusten an Probenmaterial oder zu Kontaminationen führen, sofern nicht entsprechende Gegenmaßnahmen getroffen werden.

Außerdem kann das Resuspendieren in bekannter Weise durch Vibrationen oder durch einen Schüttler bewirkt werden. Dies hat allerdings den Nachteil, daß zusätzliche Apparaturen benötigt werden (Kostenfaktor) und daß für diesen Vorgang zusätzliche Arbeitsschritte und Zeit benötigt werden, beispielsweise um die Proben in den Schüttler einzusetzen und danach wieder herauszunehmen. Zudem ist diese Methode ins-

besondere bei sehr kleinen Reaktionsvolumina nur wenig geeignet, um beispielsweise ein Pellet von Magnetpartikeln zu resuspendieren.

5 Es bestand deshalb die Aufgabe, Vorrichtungen und Verfahren zum Behandeln von Magnetpartikeln bereitzustellen, die bei magnetischen Trennverfahren der beschriebenen Art eine effizientere und schnellere Resuspendierung der pelletierten bzw. immobilisierten Magnetpartikel insbesondere bei den
10 Wasch- und Elutionsschritten ermöglichen, und die eine effizientere Durchführung des Bindungsschrittes ermöglichen, wobei die oben erwähnten Nachteile sowie andere Nachteile bekannter Methoden vermieden werden sollen.

15 Die Lösung dieser Aufgaben wird durch Vorrichtungen gemäß Anspruch 1 sowie mit den in den Ansprüchen 13 und 14 beschriebenen Verfahren ermöglicht, sowie durch die in den abhängigen Unteransprüche beschriebenen bevorzugten Ausführungsformen dieser Vorrichtungen bzw. Verfahren.

20

Die Erfindung wird nachfolgend anhand der in Fig. 1 und Fig. 2 gezeigten schematischen Darstellungen näher erläutert. Diese Zeichnungen sollen lediglich das Funktionsprinzip veranschaulichen und sollen keinesfalls als Einschränkung auf die dargestellten Ausführungsformen verstanden werden.

25

Fig. 1 bzw. Fig. 2 zeigen jeweils eine schematische (Längs-)Schnittdarstellung der erfindungsgemäßen Vorrichtungen.

30

Nach der vorliegenden Erfindung umfaßt eine Vorrichtung zum Behandeln von magnetisierbaren oder magnetisch anziehbaren, in einer Flüssigkeit vorliegenden Partikeln (3) eine Halterung (1) für ein oder mehrere Reaktionsgefäß(e) (2) mit der
35 die Partikel (3) enthaltenden Flüssigkeit, mindestens zwei

beweglich angeordnete Permanentmagnete (10,20) sowie eine Antriebseinheit (4) zum Bewegen der Permanentmagnete (10,20).

- 5 Die Permanentmagnete (10,20) sind paarweise und sich gegenüberliegend angeordnet und in vertikaler Richtung (Pfeile a, b) auf- und abwärts bewegbar.
- Der Abstand zwischen den zwei Permanentmagneten (10,20) eines Paares ist so bemessen oder einstellbar, daß ein Reaktionsgefäß (2) zwischen diesen positioniert werden kann.
- 10 Die erwähnte "gegenüberliegende Anordnung" schließt auch solche Anordnungen mit ein, bei denen sich die Magnete nicht exakt auf einer Linie (180°) gegenüberliegen; vielmehr kann dieser Winkel auch weniger als 180° betragen (ca. 180° bis ca. 120°), oder die beiden Permanentmagnete können
- 15 seitlich versetzt zueinander angeordnet sein, bezogen auf das dazwischen angeordnete Reaktionsgefäß.

- Die Vorrichtungen sind derartig aufgebaut oder steuerbar,
- 20 daß die genannte Bewegung der Permanentmagneten (10,20) in der Weise erfolgt, daß jeder Permanentmagnet einer paarweisen Anordnung aus einer ersten Position oder Ausgangsposition (A), in der er sich im Abstand zu einem Reaktionsgefäß befindet und in der er im wesentlichen keinen Einfluß auf
- 25 die genannten Partikel (3) ausübt (Magnet (10) in Fig. 1 und 2), in eine zweite oder in eine andere Position (Arbeitsposition) (B, C) gebracht werden kann, in der er sich seitlich neben dem betreffenden Reaktionsgefäß (2) befindet und in der er eine magnetische Kraft auf die Partikel (3)
- 30 ausübt (Magnet (20) in Fig. 1 u. 2). Der Abstand x zwischen den beiden Positionen (A, B; gestrichelte Linien in Fig. 1 u. 2) ist derartig eingestellt, daß die magnetische Kraft des unten stehenden Magneten (Position A) aufgrund der räumlichen Distanz keinen Einfluß mehr auf die im Reaktionsgefäß befindlichen Partikel hat.
- 35

Die vertikale Lage der Arbeitsposition (B) kann verändert bzw. vorherbestimmt werden, beispielsweise in Abhängigkeit von der Länge der verwendeten Reaktionsgefäße (2) oder des verwendeten Flüssigkeitsvolumens im Reaktionsgefäß.

Der seitliche Abstand zwischen einem in Arbeitsposition befindlichen Permanentmagneten und dem zu behandelnden Reaktionsgefäß wird möglichst gering gehalten, so daß nur ein dünner Spalt von vorzugsweise weniger als 5 mm, insbesondere von weniger als 2 mm, dazwischen liegt.

Ferner ist die Vorrichtung so eingerichtet bzw. programmiert, daß die beiden Permanentmagnete (10,20) einer paarweisen Anordnung in Bezug auf das zwischen ihnen angeordnete Reaktionsgefäß (2) miteinander abwechselnd die genannte erste Position (A) oder die genannte Arbeitsposition (B) bzw. (C) einnehmen und mit vorherbestimmbarer Geschwindigkeit und Dauer zwischen den genannten Positionen wechseln.

Durch das schnelle wechselseitige Positionieren eines Magneten auf gegenüberliegenden Seiten des Reaktionsgefäßes, welches durch die erfindungsgemäßen Vorrichtungen ermöglicht wird, werden die anfänglich in einem Pellet (in Fig. 1 nicht dargestellt) enthaltenen Magnetpartikel schnell und auf effiziente Weise auseinander gerissen und nach nur wenigen Zyklen des Wechsels der Magneten resuspendiert. Dieser Effekt würde nicht - oder erst nach erheblich längerer Zeitdauer - auftreten, wenn nur ein Magnet von einer Seite des Reaktionsgefäßes auf die andere bewegt werden würde (beispielsweise indem er unter dem Reaktionsgefäß von der einen auf die andere Seite gezogen wird), weil dies erfahrungsgemäß dazu führt, daß das Pellet als Ganzes (d. h. ohne zu zerfallen) über den Boden des Reaktionsgefäßes gezogen würde. Dies wäre mit Ausbeuteverlusten, erhöhtem Zeit-

aufwand für die Prozessierung und einer verminderten Reinheit des Separationsprodukts verbunden.

Die erfindungsgemäßen Vorrichtungen können, je nach den Erfordernissen, so angepaßt werden, daß sie für größere Probenvolumina (z. B. im Milliliter-Bereich) oder für kleinere Probenvolumina (z. B. im Mikroliter-Bereich) optimal geeignet sind.

Die Halterung (1) kann wahlweise so ausgestaltet werden, daß sie für die Aufnahme einzelner Reaktionsgefäße, z. B. Küvetten oder Eppendorf-Gefäße, oder für die Aufnahme von Mikrotiterplatten mit einer Vielzahl von Wells geeignet ist. Ferner kann die Halterung (1) so angebracht sein, daß sie in der horizontalen Ebene in mindestens einer Richtung bewegt werden kann, vorzugsweise automatisch bzw. programmgesteuert, beispielsweise um ein Reaktionsgefäß (2) in die zwischen den Permanentmagneten (10,20) liegende Position zu bringen, oder um es zur Durchführung eines weiteren Behandlungsschrittes weiter zu transportieren.

Die einzelnen, vorstehend beschriebenen Elemente der erfindungsgemäßen Vorrichtungen können auch in mehrfacher Anzahl in einer Vorrichtung verwirklicht sein. Ferner ist nach einer weiteren Ausführungsform vorgesehen, daß mehrere der in Fig. 1 gezeigten Anordnungen von bewegbaren Permanentmagneten in einer Reihe angeordnet sind, so daß die gleichzeitige Behandlung einer Reihe von nebeneinanderliegenden Reaktionsgefäßen ermöglicht wird. Eine Vorrichtung zum magnetischen Abtrennen kann auch mehrere solcher Reihen umfassen, die jeweils mehrere Anordnungen von bewegbaren Permanentmagneten aufweisen.

Dabei kann jede der einzelnen Anordnungen über eine eigene Antriebseinheit betätigt werden, oder die mehrfach vorhan-

denen Anordnungen von bewegbaren Permanentmagneten können durch eine gemeinsame Antriebseinheit betätigt werden.

Die Bewegung der Permanentmagneten (10,20) wird durch eine
5 bzw. mehrere Antriebseinheiten (4) bewirkt, gegebenenfalls unter Verwendung zusätzlicher Mittel (5) zur Kraftübertragung. Der Antrieb selbst kann mittels Elektromotoren, Elektromagneten, oder durch pneumatische oder hydraulische Mittel erfolgen, wobei die genannten Mittel auch in Kombinati-
10 on verwendet werden können. Der Antrieb kann z. B. eine Kurbelwelle, Exzentrerscheiben, Führungsschienen, Schub- und Zuggestänge oder andere dem Fachmann bekannte Bauelemente umfassen, mittels derer die Bewegung der Magneten bewirkt wird.

15 Als Permanentmagnete können im Fachhandel erhältliche Magnete von geeigneter Form verwendet werden, bevorzugt handelt es sich dabei um NdFeB-Materialien. Im Einzelfall kann es vorteilhaft sein, Permanentmagnete zu verwenden, die
20 speziell an die Form der jeweils verwendeten Reaktionsgefäße angepaßt sind. Ein Permanent-Magnet kann aus einer Vielzahl einzelner Magneten aufgebaut sein; ferner kann eine paarweise Anordnung fallweise auch mehr als zwei Permanentmagneten aufweisen.

25 Vorzugsweise sind die beiden Permanentmagnete (10,20) einer paarweisen Anordnung mechanisch in der Weise miteinander gekoppelt, daß der eine Magnet, bezogen auf das Reaktionsgefäß, sich in der genannten ersten Position (A) befindet,
30 wenn der andere Magnet sich in der genannten zweiten oder anderen Position befindet (B), und umgekehrt.

Des weiteren wird bevorzugt, daß die beiden Permanentmagnete (10,20) einer paarweisen Anordnung mechanisch in der Weise miteinander gekoppelt sind, daß die vertikalen Bewe-

gungsrichtungen (a, b) der paarweise angeordneten Permanentmagneten (10,20) gegenläufig sind.

Anstelle der genannten mechanischen Kopplung kann auch eine entsprechende Schaltung oder Steuerung verwendet werden,
5 die die gleiche Wirkung hat.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist vorgesehen, daß der Antrieb der beweglichen Permanentmagnete programmgesteuert erfolgt. Dies kann vorzugsweise mittels
10 einer eingebauter Mikroprozessor-Steuereinheit oder durch einen über einen Schnittstelle verbundenen Computer bewerkstelligt werden. Zusätzlich können mittels dieser Programmsteuerung auch noch weitere Funktionen der erfindungsgemäßen Vorrichtungen gesteuert werden, beispielsweise die Bewegung der Halterung (1) in horizontaler und/oder vertikaler Richtung, oder gegebenenfalls vorhandene Pipettier-Einheiten.
15

Vorzugsweise ist die genannte Programmsteuerung so ausgelegt, daß sie eine oder mehrere der folgenden Funktionen bzw. Parameter (einzeln oder in Kombination) der erfindungsgemäßen Vorrichtungen vorherbestimmt bzw. steuert:

- die Geschwindigkeit und/oder
- die Frequenz und/oder
- 25 - die Anzahl der Zyklen der Bewegungen der Magneten, und/oder
- die Dauer von zwischen den Bewegungen liegenden Pausenintervallen (Verweilzeit), und/oder
- die Lage der genannten ersten bzw. anderen Arbeitsposition in vertikaler Richtung, und/oder
30
- die Reihenfolge, in der die Permanentmagneten die genannten unterschiedlichen Positionen einnehmen.

Falls eine Vorrichtung eine Vielzahl von paarweisen Magnetanordnungen, z. B. in einer Reihe, aufweist, werden die Be-

wegungsabläufe dieser multiplen Einheiten vorzugsweise mittels Programmsteuerung koordiniert.

Die verschiedenen Parameter, wie Schnelligkeit der Bewegung
5 der Permanentmagneten, Dauer bzw. Verweilzeit, Anzahl der
Zyklen etc., hängen unter anderem von der Art der jeweils
zu behandelnden Proben sowie von der Art des jeweiligen Be-
handlungsschrittes ab. Diese Parameter kann der Fachmann
durch einfache Vorversuche ermitteln und optimieren.

10

Gemäß einer weiteren, besonders bevorzugten Ausführungsform
ist vorgesehen, daß zumindest einer der bewegbaren Perma-
nentmagneten (10, 20) in eine Position gebracht werden
kann, in der er sich neben dem betreffenden Reaktionsgefäß
15 (2) und an dessen unterem Ende befindet und in der er eine
magnetische Kraft auf die Partikel ausübt (Position C in
Fig. 2, Magnet (20)). Diese vorherbestimmte bzw. vorherbe-
stimbare Position wird "Elutionssposition" genannt, da
aufgrund der Lage der Magneten am unteren Ende des Reakti-
20 onsgefäßes ein relativ geringes Volumen an Elutionsflüssig-
keit ausreicht, um ein Resuspendieren der Partikel in der
Elutionsflüssigkeit zu ermöglichen. Ein geringes Elutions-
volumen ist wünschenswert, damit die eluierte Zielsubstanz
in möglichst hoher Konzentration erhalten wird. Umgekehrt
25 werden bei den Waschschritten relativ große Volumina an
Waschflüssigkeit eingesetzt, weshalb die obere Position des
Permanentmagneten in diesem Fall vorzugsweise höher liegt,
bezogen auf das Reaktionsgefäß (siehe Position B in Fig.
1).

30

Das Erreichen der Elutionsposition kann dadurch bewirkt
werden, daß die Halterung (1) für die Reaktionsgefäße in
vertikaler Richtung (Pfeil c) bewegbar angeordnet ist, und
daß sie sich während des Elutionsvorgangs in einer höheren,
35 festgelegten oder vorherbestimmbaren Position, bezogen auf

das Ausgangsniveau, befindet. Das heißt, durch die Bewegung der Halterung wird der vertikale Abstand zwischen der Halterung (1) und der Permanentmagnet-Anordnung (10,20) vergrößert (Abstand y in Fig. 1 bzw. Fig. 2).

- 5 Der Abstand x zwischen der Ausgangsposition A und der Arbeitsposition B (Fig. 1) bzw. der Elutionsposition C (Fig. 2) der Permanentmagneten bleibt dabei vorzugsweise unverändert.
- 10 Alternativ können die Permanentmagnete auch dadurch in eine Elutionsposition gebracht werden, indem diese - vorzugsweise bei gleichbleibendem Niveau der Halterung (1) - unter Verkürzung der Distanz x in eine Arbeitsposition gebracht werden, die tiefer (und damit näher am Boden des Reaktions-
- 15 gefäßes) liegt als die oben erwähnte Arbeitsposition, welche bei den Waschschritten verwendet wird und in Fig. 1 mit B bezeichnet ist (Magnet (20)). Auch in diesem Fall befindet sich der Permanentmagnet in der Elutionsposition neben dem betreffenden Reaktionsgefäß (2), aber an dessen unterem
- 20 Ende.

- Eine andere Maßnahme, mit der erreicht werden kann, daß ein Magnet in die beschriebene Elutionsposition gebracht wird, besteht darin, daß die Antriebseinheit (4) (mit der die
- 25 Permanentmagnete verbunden sind) bewegt bzw. in ihrer Position verändert wird. Hierzu ist die Antriebseinheit derartig angeordnet, daß sie in vorherbestimmbarer Weise nach unten bewegt (abgesenkt) werden kann und dort während des Elutionsschrittes verbleibt. Durch eine derartige Positionierung der Antriebseinheit kann bewirkt werden, daß ein
- 30 Magnet, wenn er sich in der genannten oberen oder Arbeitsstellung befindet, in der Nähe des unteren Endes des Reaktionsgefäßes zu liegen kommt. Auch in diesem Fall vergrößert sich der Abstand y bzw. der vertikale Abstand zwischen

Antriebseinheit und dem unteren Ende des betreffenden Reaktionsgefäßes.

Die zuletzt beschriebene Ausführungsform der Vorrichtung, bei welcher die relative Position der Antriebseinheit ver-
5 änderbar ist, ist insbesondere dann vorteilhaft, wenn eine vertikale Bewegung der Halterung (1) aus räumlichen Gründen nicht verwirklicht werden kann.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform sind die Richtung und/oder Distanz und/oder Geschwindigkeit der Bewegung der
10 Antriebseinheit bzw. der Halterung, und/oder dazwischenliegende Pausenintervalle, vorherbestimmbar oder programmierbar.

Die Bewegung der Halterung bzw. der Antriebseinheit in ver-
15 tikaler und/oder horizontaler Richtung kann mit ähnlichen Mitteln erfolgen, wie dies für die Bewegung der Permanentmagnete beschrieben wurde (Motor, pneumatisch, etc.). Auch in diesem Fall ist vorzugsweise eine Programmsteuerung vorgesehen, welche es gestattet, die Richtung und/oder Distanz
20 und/oder Geschwindigkeit der Bewegung und/oder dazwischenliegende Pausenintervalle vorherzubestimmen und zu steuern. Auch eine Koordinierung der Bewegung der Halterung bzw. der Antriebseinheit mit der Bewegung/den Bewegungen der Permanentmagnete kann auf diese Weise bewirkt werden.

25 Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann ferner so ausgebildet sein, daß sie für die Permanentmagneten eine weitere Arbeitsposition vorsieht, die beispielsweise der genannten Elutionsposition annähernd entspricht und in welcher zumindest
30 dest einer der Permanentmagneten befähigt ist, auf die Magnetpartikel in der Weise einzuwirken, daß diese an der Innenwand des Reaktionsgefäßes immobilisiert werden bzw. dort ein Pellet formen. Die Vorrichtung läßt sich dann auch zur Durchführung der Pelletierungsschritte des Trennverfahrens

verwenden (z. B. zum Absaugen der Waschflüssigkeits-Überstände oder des die Zielsubstanz(en) enthaltenden Eluats). Abhängig vom jeweiligen Anwendungsfall kann für den Pelletierungsschritt auch eine andere, geeignete Arbeitsposition des/der Magneten gewählt werden, wie z. B. die erwähnte Arbeitsposition B in Fig. 1.

Die Verweildauer des Magneten in der genannten Position (zum Pelletieren / Immobilisieren) ist vorherbestimmbar bzw. programmierbar. Während der Verweilzeit ist der Antrieb des/der Magneten vorübergehend ausgeschaltet bzw. unterbrochen.

Der Pelletierungs/Immobilisierungs-Schritt ist üblicherweise durch eine Schaltung oder Programmsteuerung mit dem Schritt des Absaugens der Waschflüssigkeit bzw. des Eluats koordiniert bzw. synchronisiert.

Die erfindungsgemäßen Vorrichtungen können ferner auch in vorteilhafter Weise zur Durchführung des eingangs erwähnten Bindungs-Schrittes bei magnetischen Trennverfahren verwendet werden. Zu diesem Zweck ist bei der Vorrichtung vorgesehen, daß die Bewegung der Magneten (relativ zum behandelten Reaktionsgefäß) so eingestellt bzw. programmiert werden kann, daß durch diese Bewegung das gravimetrisch bedingte Sedimentieren der Magnetpartikel verhindert wird. Beispielsweise kann dies durch eine verlangsamte Bewegung der Magneten bewirkt werden.

Durch das Verhindern der gravimetrischen Sedimentation der Magnetpartikel während des Bindungs-Schrittes wird die Effizienz der Bindung der Zielsubstanz-Moleküle an die Magnetpartikel erhöht, wodurch wiederum eine Verbesserung der Ausbeute zur Folge hat.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform können die erfindungsgemäßen Vorrichtungen mit Mitteln versehen sein, die für die Durchführung der weiteren Arbeitsschritte von ma-

gnetischen Trennverfahren erforderlich sind. Hierzu gehören insbesondere Vorrichtungen zum Absaugen von Flüssigkeit aus den Reaktionsgefäßen und/oder Pipettiervorrichtungen zum Hinzudosieren bzw. Absaugen definierter Flüssigkeitsvolumina zu bzw. aus den Reaktionsgefäßen. Auch diese zusätzlichen Mittel sind vorzugsweise programmsteuerbar.

Die erfindungsgemäßen Vorrichtungen können aber auch als Modul(e) in handelsübliche Liquid-Handling-Geräte eingebaut und mit diesen kombiniert werden. Das Liquid-Handling-Gerät übernimmt dabei die Vorgänge des Befüllens der Reaktionsgefäße mit Flüssigkeiten (z. B. Bindungs-, Wasch- oder Elutionsflüssigkeiten) sowie das Absaugen oder Abziehen der Flüssigkeiten aus den Reaktionsgefäßen.

Die erfindungsgemäßen Vorrichtungen übernehmen in einem solchen Kombinationsgerät einen oder mehrere der folgenden Vorgänge:

- Durchführung des Bindungs-Schrittes
- Re-Suspendieren der Magnetpartikel (z. B. in Wasch- oder Elutionsflüssigkeit)
- Pelletieren bzw. Immobilisieren der Magnetpartikel während des Absaugens/Abziehens einer Flüssigkeit.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung und die ihr zugrunde liegende Methode der Behandlung von Magnetpartikeln zeichnen sich durch hervorragende Resuspendierungseigenschaften, durch eine hohe Effizienz beim Bindungsschritt, durch hohe Reinheiten und hohe Ausbeuten des Separationsprodukts, durch Zeitersparnis sowie durch einen geringen Verbrauch von Verbrauchsmaterial, wie Pipettenspitzen, bei der Durchführung von magnetischen Trennverfahren aus.

Durch die beschriebene Möglichkeit der Veränderung des vertikalen Abstands der Magneten (Distanz x) und/oder des vertikalen Abstands (Distanz y) zwischen den Magneten und dem

Reaktionsgefäß bzw. der Halterung (1) und/oder der vertikalen Position der Antriebseinheit und/oder des horizontalen Abstands zwischen den Magneten kann die Vorrichtung auf vielfältige Weise an unterschiedlich große Reaktionsvolumina bzw. unterschiedliche Größen und Formen von Reaktionsgefäßen angepaßt werden. Aufgrund der Einfachheit des Systems ist eine gute Steuerung der einzelnen Funktionen möglich, angepaßt an die jeweilige Anwendung.

10

Mit der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zum Behandeln von einem Magnetpartikel oder einer Vielzahl von Magnetpartikeln, die in einem Reaktionsgefäß beispielsweise in Form eines Pellets vorliegen, um diese Partikel in einer Flüssigkeit, beispielsweise einer Wasch-, Elutions- oder Bindungsflüssigkeit, zu resuspendieren. Dies geschieht in der Weise, daß ein Permanentmagnet in abwechselnder Reihenfolge auf gegenüberliegenden Seiten des Reaktionsgefäßes (2) positioniert wird, so daß er sich jeweils neben dem betreffenden Reaktionsgefäß befindet und eine magnetische Kraft auf die Partikel (3) ausübt. Durch das Hin- und Herwechseln des Magneten zwischen den beiden gegenüberliegenden Seiten wird bewirkt, daß das Pellet auseinander gerissen wird und die Magnetpartikel in der Flüssigkeit suspendiert werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft ferner Verfahren zum Behandeln von magnetisierbaren oder magnetisch anziehbaren, in einem Reaktionsgefäß, beispielsweise in Form eines Pellets, vorliegenden Partikeln mit einer Flüssigkeit, beispielsweise einer Wasch-, Elutions- oder Bindungsflüssigkeit.

Diese Verfahren umfassen die Schritte:
a) Hinzufügen einer vorbestimmten Menge einer Flüssigkeit zu einem Magnetpartikel enthaltenden Pellet;

35

- b) Resuspendieren der pelletierten Partikel und Mischen mit der Flüssigkeit,
Erfindungsgemäß wird Schritt b) dabei in der Weise durchgeführt,
- 5 - daß das genannte Reaktionsgefäß (2) zwischen zwei paarweise und gegenüberliegend angeordneten, vertikal bewegbaren Permanentmagneten (10,20) positioniert wird, und
 - daß die genannte Bewegung der Permanentmagnete in der Weise erfolgt, daß jeder Permanentmagnet einer paarweisen
10 Anordnung aus einer ersten Position oder Ausgangsposition (A), in der er sich im Abstand zu einem Reaktionsgefäß befindet und in der er im wesentlichen keinen Einfluß auf die genannten Partikel (3) ausübt, in eine zweite oder in eine andere Position (B,C) (Arbeitsposition) gebracht
15 wird, in der er sich seitlich neben dem betreffenden Reaktionsgefäß (2) befindet und in der er eine magnetische Kraft auf die Partikel ausübt. Vorzugsweise verbleibt der Magnet jeweils für eine vorherbestimmte Zeitdauer (Verweilzeit) in dieser Position, bevor er wieder in die Ausgangsposition zurückkehrt.
20

Die beiden Permanentmagnete einer paarweisen Anordnung nehmen in Bezug auf das zwischen ihnen angeordnete Reaktionsgefäß miteinander abwechselnd die genannte erste Position
25 (A) oder die genannte Arbeitsposition (B,C) ein und wechseln mit vorherbestimmbarer Geschwindigkeit und Dauer zwischen den genannten Positionen.

Durch die rasch aufeinanderfolgende abwechselnde Positionierung der Permanentmagneten auf gegenüberliegenden Seiten
30 des Reaktionsgefäßes wird eine schnelle und effiziente Auflösung des Pellets und Resuspendierung der Magnetpartikel herbeigeführt.

Das vorstehend beschriebene Verfahren kann auch zur Durchführung des erwähnten Bindungsschrittes bei magnetischen Trennverfahren zum Einsatz kommen. Hierbei werden das/die Magnetpartikel in ein Reaktionsgefäß gegeben, welches die abzutrennende Zielsubstanz in einer Flüssigkeit (Bindungs-
5 Flüssigkeit bzw. Bindungspuffer) enthält. Durch die beschriebene Bewegung der Permanentmagneten kann der gravitationsbedingten Sedimentation der Magnetpartikel entgegengewirkt werden, d. h. die Partikel werden während des Bindungsschrittes in der Flüssigkeit im schwebenden oder suspendierten Zustand gehalten. Infolgedessen wird die Effizienz des Bindungsschrittes gesteigert und die Ausbeute verbessert.

15 Damit - im Falle der Verwendung einer Elutionsflüssigkeit zum Eluieren von an den Partikeln gebundenen Substanzen - der Elutionsschritt (Schritt b) mit einem möglichst geringen Elutionsvolumen durchgeführt werden kann, wird eine Variante des Verfahren bevorzugt, bei der sich ein Permanentmagnet in der Arbeitsposition, d. h. während des Resuspendierens, seitlich neben dem betreffenden Reaktionsgefäß und an dessen unterem Ende befindet (Elutionsposition C).
20 Dies kann vorzugsweise dadurch erreicht werden, daß das Reaktionsgefäß oder eine das Reaktionsgefäß tragende Halterung in vertikaler Richtung, relativ zur Arbeitsposition des Permanentmagneten, aus einer unteren oder Ausgangsposition in eine vorherbestimmbare obere Position gebracht wird, wie schematisch in Fig. 2 gezeigt (Distanz y).
25 Alternativ kann der gleiche Zweck erreicht werden, indem - wie bereits erwähnt - die Position der Antriebseinheit für die Magneten in im wesentlichen vertikaler Richtung verändert wird, oder indem die Bewegung der Permanentmagneten so gesteuert wird, daß die jeweils erreichte obere Arbeitsposition tiefer und näher am unteren Ende des Reaktionsgefäßes zu liegen kommt, verglichen mit der Arbeitsposition,
30
35

die während des Resuspendierungsvorganges bei einem Waschs-
Schritt erreicht wird.

Um den Resuspendierungsvorgang während eines Waschschr-
5 oder während Elutionsschrittes wirksamer zu gestalten, kann
es vorteilhaft sein, wenn nach dem Positionieren eines Ma-
gneten in Arbeitsstellung eine Verweildauer beginnt, die in
etwa so lange andauert, bis sich das Magnetpartikel-Pellet
von der Gefäßwand loszulösen beginnt. Erst nach dieser Ver-
10 weilzeit findet der nächste Positionierungsvorgang statt,
d. h. der Wechsel zwischen Ausgangs- und Arbeitsstellung
der paarweise angeordneten Permanentmagneten. Die Länge der
Verweilzeit sowie die Wiederholungszyklen der Positionie-
rungsvorgänge der Magneten werden vorzugsweise mittels ei-
15 nes Computerprogramms gesteuert.

Die genannten Verfahren werden vorzugsweise unter Verwen-
dung der erfindungsgemäßen und oben beschriebenen Vorrich-
tungen durchgeführt.

20

Die erfindungsgemäßen Vorrichtungen und Verfahren lassen
sich unter Ausnutzung der beschriebenen Vorteile bei den
verschiedenartigen Trennverfahren, welche auf magnetisch
anziehbaren Mikropartikeln beruhen, einsetzen. Aufgrund der
25 wirksameren, schnelleren Resuspendierung kann mit der Er-
findung insbesondere bei Hochdurchsatz-Verfahren eine Lei-
stungssteigerung und Kostenersparnis erzielt werden.

Beschreibung der Abbildungen

Fig. 1

zeigt in Schnittdarstellung den schematischen Aufbau einer
5 erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einer Halterung (1) für
Reaktionsgefäße (2), welche optional in Richtung des Pfeils
c auf- oder abwärts bewegt werden kann. Die Halterung be-
findet sich im wesentlichen in einer horizontalen Ebene re-
lativ zur Bewegungsrichtung der Permanentmagneten. Die Hal-
10 terung kann so angeordnet sein, daß sie innerhalb der hori-
zontalen Ebene in einer, zwei oder mehreren Richtungen be-
wegbar ist.

Das Reaktionsgefäß (2) enthält magnetisch anziehbare bzw.
magnetisierbare Partikel (Magnetpartikel) (3), üblicherwei-
15 se in einer Flüssigkeit suspendiert.

Unterhalb des Reaktionsgefäßes befindet sich eine Einheit
von paarweise angeordneten Permanentmagneten (10,20), zwi-
schen denen ein Reaktionsgefäß (2) angeordnet ist. Die Ma-
gnete werden mittels einer Antriebseinheit (4) und dazuge-
20 höriger Antriebselemente (5) in Richtung der Pfeile a bzw.
b in vertikaler Richtung abwechselnd bewegt, wobei die Ma-
gnete jeweils zwischen einer Ausgangsposition (A) bzw. (B)
wechseln. Im abgebildeten Fall befindet sich Magnet (10) in
der Ausgangsposition (A) und Magnet (20) in Arbeitsposition
25 (B). In der Arbeitsposition befindet sich der jeweilige Ma-
gnet neben dem Reaktionsgefäß, so daß er eine magnetische
Anziehungskraft auf die im Gefäß suspendierten Partikel
ausüben kann.

Der Pfeil x bezeichnet die Distanz zwischen der Ausgangspo-
30 sition und der Arbeitsposition der beiden Permanentmagne-
ten.

Der Pfeil y bezeichnet die Distanz zwischen der Ausgangspo-
sition (A) der Permanentmagneten und der Halterung (1) für
die Reaktionsgefäße.

Fig. 2

entspricht Fig, 1, mit dem Unterschied, daß die Halterung (1) in vertikaler Richtung nach oben bewegt wurde, so daß die Distanz y größer ist.

- 5 Dies hat zur Folge, daß der Permanentmagnet (20), wenn er sich in seiner Arbeitsposition C befindet, nahe dem unteren Ende des Reaktionsgefäßes zu liegen kommt. Diese Position (relativ zum Reaktionsgefäß) wird als Elutionsposition bezeichnet.
- 10 Die Lage der Ausgangsposition A und die Länge der Distanz x ist dieselbe wie in Fig. 1.

Ansprüche

1. Vorrichtung zum Behandeln von magnetisierbaren oder magnetisch anziehbaren, in einer Flüssigkeit vorliegenden Partikeln (3), umfassend
- eine Halterung (1) für ein oder mehrere Reaktionsgefäß(e) (2) mit der die Partikel enthaltenden Flüssigkeit,
 - mindestens zwei beweglich angeordnete Permanentmagnete (10,20),
 - eine Antriebseinheit (4) zum Bewegen der Permanentmagneten (10,20);
- wobei
- die Permanentmagnete (10,20) paarweise und einander gegenüberliegend angeordnet sind und in vertikaler Richtung (a, b) bewegbar sind,
 - der Abstand zwischen den zwei Permanentmagneten (10,20) eines Paares so bemessen oder einstellbar ist, daß ein Reaktionsgefäß (2) zwischen diesen positioniert werden kann,
 - die genannte Bewegung der Permanentmagnete in der Weise erfolgt, daß abwechselnd jeder Permanentmagnet einer paarweisen Anordnung aus einer ersten Position oder Ausgangsposition (A), in der er sich im Abstand zu einem Reaktionsgefäß (2) befindet und in der er im wesentlichen keinen Einfluß auf die genannten Partikel (3) ausübt, in eine zweite oder in eine andere Position (Arbeitsposition) (B,C) gebracht werden kann, in der er sich seitlich neben dem betreffenden Reaktionsgefäß befindet und in der er eine magnetische Kraft auf die Partikel (3) ausübt, und wobei die beiden Permanentmagnete einer paarweisen Anordnung in Bezug auf das zwischen ihnen angeordnete Reaktionsgefäß miteinander abwechselnd die genannte erste Position oder die genannte Arbeitsposition einnehmen und mit vorherbestimmbarer Geschwindigkeit und/oder Dauer zwischen den genannten Positionen wechseln.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
daß der Antrieb der beweglichen Permanentmagnete (10,20)
programmgesteuert erfolgt, vorzugsweise durch eine einge-
baute Mikroprozessor-Steuereinheit oder durch einen über
5 einen Schnittstelle verbundenen Computer.

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekenn-
zeichnet, daß

- die Geschwindigkeit und/oder
- 10 - die Frequenz und/oder
- die Anzahl der Zyklen der Bewegungen der Magneten,
und/oder
- die Dauer von zwischen den Bewegungen liegenden Pausenin-
tervallen, und/oder
- 15 - die Lage der genannten ersten bzw. anderen Arbeitsposi-
tion in vertikaler Richtung, und/oder
- die Reihenfolge, in der die Permanentmagnete die genann-
ten Positionen einnehmen

vorherbestimmbar oder steuerbar, vorzugsweise durch ein
20 Programm steuerbar ist.

4. Vorrichtung nach einem der vorangehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, daß die beiden Permanentmagnete
(10,20) einer paarweisen Anordnung mechanisch in der Weise
25 miteinander gekoppelt sind, daß der eine Magnet, bezogen
auf das Reaktionsgefäß, sich in der genannten ersten Posi-
tion (A) befindet, wenn der andere Magnet sich in der ge-
nannten zweiten oder anderen Position (B,C) befindet, und
umgekehrt.

5. Vorrichtung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die beiden Permanentmagnete (10,20) einer paarweisen Anordnung mechanisch in der Weise miteinander gekoppelt sind, daß die vertikalen Bewegungs-
5 richtungen der paarweise angeordneten Permanentmagneten gegenläufig sind.

6. Vorrichtung nach einem der einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Antrieb der Permanentmagnete durch Elektromotoren, durch pneumatische, hydraulische oder elektromagnetische Antriebsmittel, oder durch eine Kombination mindestens zweier der genannten Mittel erfolgt.

15 7. Vorrichtung nach einem der einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Vielzahl der genannten paarweise angeordneten Permanentmagneten (10,20) aufweist, vorzugsweise in reihenförmiger Anordnung.

20 8. Vorrichtung nach einem der einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß eine weitere Position (genannt Elutions-Position; (C)) vorgesehen ist, in der sich der Permanentmagnet neben dem betreffenden Reaktionsgefäß und an dessen unterem Ende befindet und in der er
25 eine magnetische Kraft auf die Partikel (3) ausübt.

9. Vorrichtung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die genannte Halterung (1) in vertikaler Richtung (c) bewegbar angebracht ist und durch
30 Antriebsmittel aus einer unteren oder Ausgangsposition in eine vorherbestimmbare obere Position gebracht werden kann, so daß ein Permanentmagnet (10,20), wenn er sich in der genannten Arbeitsposition an einem Reaktionsgefäß befindet, am unteren Ende des jeweiligen Reaktionsgefäßes positioniert ist und sich in der Elutions-Position (C) befindet.
35

10. Vorrichtung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die genannte Antriebseinheit (4) bewegbar angebracht ist und durch Antriebsmittel aus einer oberen oder Ausgangsposition in eine vorherbestimmbare untere Position gebracht werden kann, so daß ein Permanentmagnet (10,20), wenn er sich in der genannten Arbeitsposition (B,C) an einem Reaktionsgefäß (2) befindet, am unteren Ende des jeweiligen Reaktionsgefäßes (2) positioniert ist,
- 10 wobei bevorzugt wird, daß die Richtung und/oder Distanz und/oder Geschwindigkeit der Bewegung der Antriebseinheit und/oder dazwischenliegende Pausenintervalle vorherbestimmbar oder programmierbar sind.
- 15 11. Vorrichtung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die genannte Halterung (1) in horizontaler und/oder vertikaler Richtung bewegbar angebracht ist, wobei bevorzugt wird, daß die Richtung und/oder Distanz und/oder Geschwindigkeit der Bewegung und/oder dazwischenliegende Pausenintervalle vorherbestimmbar oder programmierbar sind.
- 20 12. Vorrichtung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sie Vorrichtungen zum Absaugen von Flüssigkeit aus den Reaktionsgefäßen (2) und/oder Pipettiervorrichtungen zum Hinzudosieren definierter Flüssigkeitsvolumina zu den Reaktionsgefäßen aufweist, wobei diese Arbeitsschritte vorzugsweise programmsteuerbar sind.
- 30 13. Verfahren zum Behandeln von magnetisierbaren oder magnetisch anziehbaren, in einem Reaktionsgefäß (2) vorliegenden Partikeln (3), um die Partikel in einer hinzugegebenen Flüssigkeit zu resuspendieren, dadurch gekennzeichnet, daß ein Permanentmagnet (10,20) in abwechselnder Reihenfolge auf gegenüberliegenden Seiten des Reaktionsgefäßes (2)
- 35

positioniert wird, so daß er sich jeweils neben dem betreffenden Reaktionsgefäß befindet und eine magnetische Kraft auf die Partikel (3) ausübt.

- 5 14. Verfahren zum Behandeln von magnetisierbaren oder magnetisch anziehbaren, in einem Reaktionsgefäß vorliegenden Partikeln (3) mit einer Flüssigkeit, umfassend die Schritte:
- 10 a) Hinzufügen einer vorbestimmten Menge einer Flüssigkeit zu einem Magnetpartikel (3) enthaltenden Pellet;
- b) Resuspendieren der pelletierten Partikel und Mischen mit der Flüssigkeit,
- dadurch gekennzeichnet, daß Schritt b) in der Weise durchgeführt wird,
- 15 - daß das genannte Reaktionsgefäß zwischen zwei paarweise und gegenüberliegend angeordneten, vertikal bewegbaren Permanentmagneten (10,20) positioniert wird, und
- daß die genannte Bewegung der Permanentmagnete (10,20) in der Weise erfolgt, daß abwechselnd jeder Permanentmagnet
- 20 einer paarweisen Anordnung aus einer ersten Position oder Ausgangsposition (A), in der er sich im Abstand zu einem Reaktionsgefäß (2) befindet und in der er im wesentlichen keinen Einfluß auf die genannten Partikel (3) ausübt, in eine zweite oder in eine andere Position (Arbeitsposition) (B,C) gebracht wird, in der er sich seitlich neben
- 25 dem betreffenden Reaktionsgefäß befindet und in der er eine magnetische Kraft auf die Partikel (3) ausübt, und wobei die beiden Permanentmagnete einer paarweisen Anordnung in Bezug auf das zwischen ihnen angeordnete Reaktionsgefäß miteinander abwechselnd die genannte erste Position oder die genannte Arbeitsposition einnehmen und mit
- 30 vorherbestimmbarer Geschwindigkeit und Dauer zwischen den genannten Positionen wechseln.

15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet,
daß als Flüssigkeit eine Bindungs-Flüssigkeit, Wasch-
Flüssigkeit oder Elutions-Flüssigkeit verwendet wird zur
Durchführung der bei magnetischen Trennverfahren vorgesehe-
5 nen Bindungs-, Wasch- oder Elutionsschritte.

16. Verfahren nach Anspruch 14 oder 15, dadurch gekenn-
zeichnet, daß Schritt b) in der Weise durchgeführt wird,
daß
10 - daß das genannte Reaktionsgefäß (2) zwischen zwei paar-
weise und gegenüberliegend angeordneten, vertikal beweg-
baren Permanentmagneten (20,30) positioniert wird, und
- daß jeder Permanentmagnet der genannten paarweisen Anord-
nung abwechselnd in eine Elutions-Position (C) gebracht
15 wird, in der er sich seitlich neben dem betreffenden Re-
aktionsgefäß und an dessen unterem Ende befindet und in
der er eine magnetische Kraft auf die Partikel ausübt.

17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet,
20 daß der genannte Permanentmagnet dadurch in die beschriebe-
ne Elutions-Position (C) gebracht wird,
- indem das Reaktionsgefäß oder eine das Reaktionsgefäß
tragende Halterung (1) in vertikaler Richtung (c), rela-
tiv zur Arbeitsposition (B) des Permanentmagneten, aus
25 einer unteren oder Ausgangsposition in eine vorherbe-
stimmbare obere Position gebracht wird, oder/und
- indem die genannte Ausgangsposition (A) der Permanentma-
gneten in eine vorherbestimmbare untere Position gebracht
wird,
30 so daß ein Permanentmagnet, wenn er sich in der genannten
Arbeitsposition (B) an einem Reaktionsgefäß befindet, am
unteren Ende des jeweiligen Reaktionsgefäßes positioniert
ist.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß die genannten Bewegungen der Permanentmagneten (10,20) bzw. der Reaktionsgefäß-Halterung (1) automatisch und/oder programmgesteuert durchgeführt werden.
- 5
19. Verfahren einem der Ansprüche 13 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß der Schritt des Resuspendierens in der Weise erfolgt, daß auf jede Positionsänderung der Magneten eine Verweilzeit folgt, deren Länge vorherbestimmt ist.
- 10
20. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß es unter Verwendung einer Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12 durchgeführt wird.
- 15
21. Verwendung einer Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12 bei der Abtrennung von Substanzen mittels magnetisierbarer oder magnetisch anziehbarer Partikel,
- 20
- (a) zur Durchführung des Bindungsschrittes und/oder
 - (b) zum Resuspendieren und/oder
 - (c) bei einem Wasch-Schritt und/oder
 - (d) zum Pelletieren/Immobilisieren der Partikel und/oder
 - (e) bei einem Elutions-Schritt.

FIG. 1

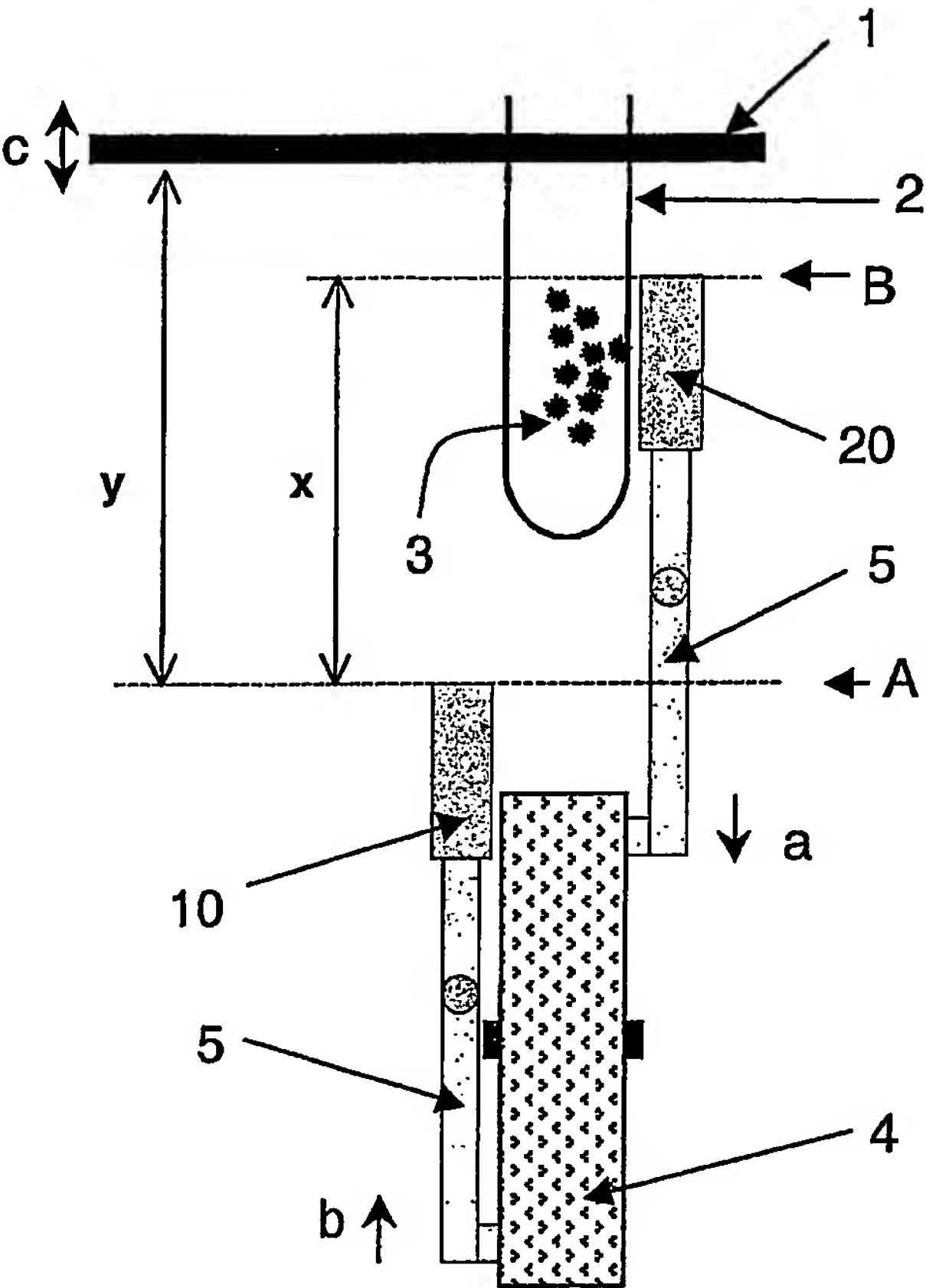
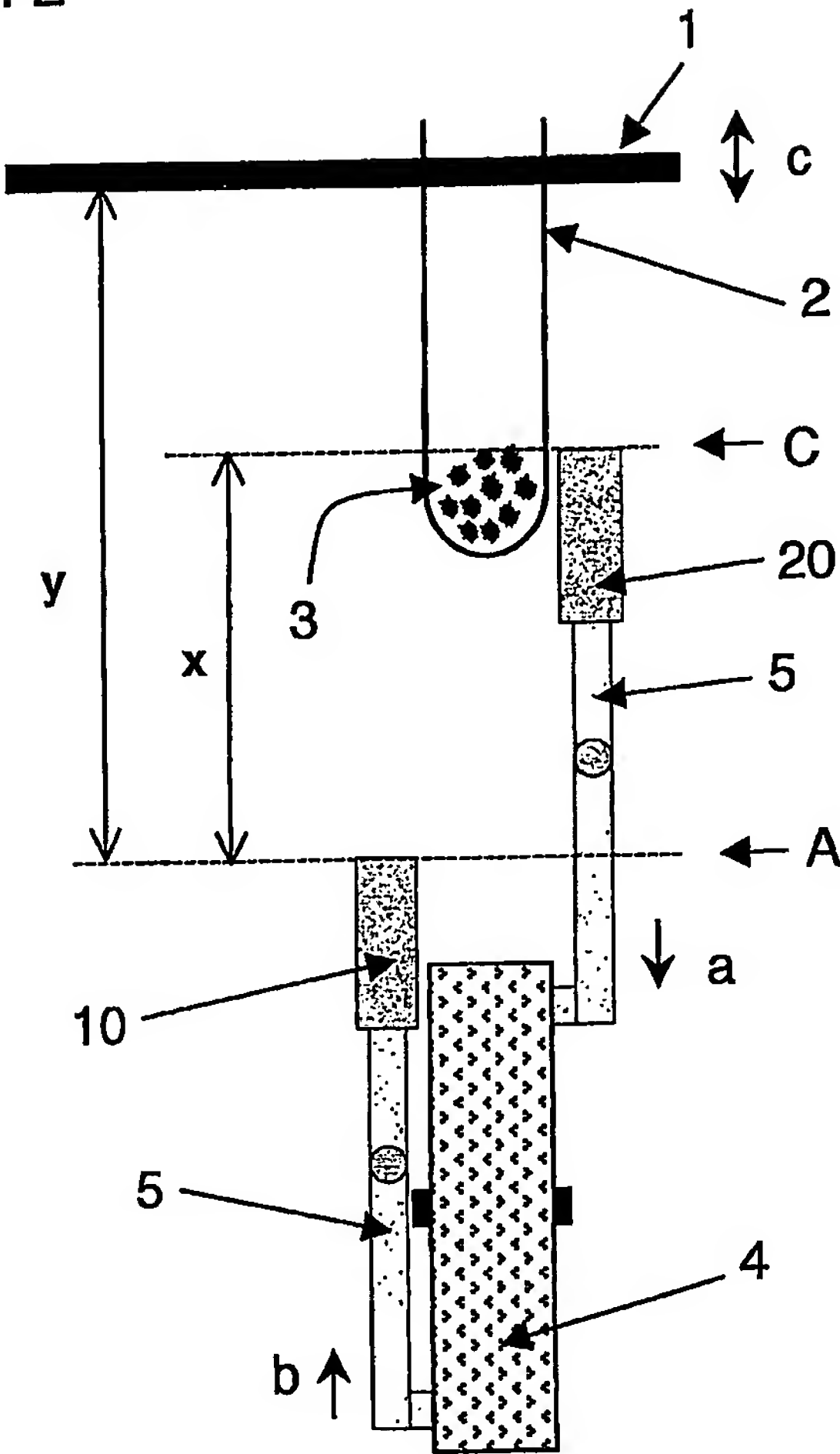


FIG. 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/12411

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 G01N35/00 G01N33/543 B03C1/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N B03C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 905 520 A (HOFFMANN LA ROCHE) 31 March 1999 (1999-03-31)	1-6, 8, 10-13, 21
Y	column 6, line 9 -column 8, line 30; figures 2, 7B	14-20
Y	EP 0 589 636 A (AMERSHAM INT PLC) 30 March 1994 (1994-03-30)	14-20
A	column 3, line 10 -column 4, line 40 column 7, line 8-27	1-13, 21
Y	US 5 705 062 A (KNOBEL ROLF) 6 January 1998 (1998-01-06)	14-20
A	column 3, line 43-56	1-13, 21
Y	US 6 187 270 B1 (SCHMITT URBAN ET AL) 13 February 2001 (2001-02-13)	14-20
A	claims 1-13	1-13, 21
	-/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 Apr 11 2003

Date of mailing of the international search report

17/04/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Diez Schlereth, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/12411

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 6 150 182 A (CASSADAY MICHAEL M) 21 November 2000 (2000-11-21)	14-20
A	column 4, line 20 -column 5, line 60	1-13,21
P,A	DE 100 63 984 A (BILATEC GES ZUR ENTWICKLUNG BI) 20 June 2002 (2002-06-20) page 6, line 29-45; figures 14,15	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 02/12411

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0905520	A	31-03-1999	EP 0905520 A1	31-03-1999
			JP 11156231 A	15-06-1999
EP 0589636	A	30-03-1994	EP 0589636 A1	30-03-1994
			AT 195081 T	15-08-2000
			CA 2106640 A1	25-03-1994
			DE 69329135 D1	07-09-2000
			DE 69329135 T2	11-01-2001
			JP 6198214 A	19-07-1994
			US 5976369 A	02-11-1999
			US 5458785 A	17-10-1995
			US 5897783 A	27-04-1999
US 5705062	A	06-01-1998	AT 212723 T	15-02-2002
			CA 2131843 A1	18-03-1995
			DE 59410037 D1	14-03-2002
			EP 0644425 A1	22-03-1995
			ES 2170083 T3	01-08-2002
			JP 2825768 B2	18-11-1998
			JP 7181188 A	21-07-1995
US 6187270	B1	13-02-2001	DE 4423878 A1	11-01-1996
			DE 59510148 D1	16-05-2002
			EP 0691541 A2	10-01-1996
			JP 2729034 B2	18-03-1998
			JP 8052378 A	27-02-1996
US 6150182	A	21-11-2000	NONE	
DE 10063984	A	20-06-2002	DE 10063984 A1	20-06-2002

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/12411

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 G01N35/00 G01N33/543 B03C1/04

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G01N B03C

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 905 520 A (HOFFMANN LA ROCHE) 31. März 1999 (1999-03-31)	1-6,8, 10-13,21 14-20
Y	Spalte 6, Zeile 9 -Spalte 8, Zeile 30; Abbildungen 2,7B	
Y	EP 0 589 636 A (AMERSHAM INT PLC) 30. März 1994 (1994-03-30)	14-20
A	Spalte 3, Zeile 10 -Spalte 4, Zeile 40 Spalte 7, Zeile 8-27	1-13,21
Y	US 5 705 062 A (KNOBEL ROLF) 6. Januar 1998 (1998-01-06)	14-20
A	Spalte 3, Zeile 43-56	1-13,21
Y	US 6 187 270 B1 (SCHMITT URBAN ET AL) 13. Februar 2001 (2001-02-13)	14-20
A	Ansprüche 1-13	1-13,21
	— — — — — -/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

9. April 2003

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

17/04/2003

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Diez Schlereth, D

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/12411

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	US 6 150 182 A (CASSADAY MICHAEL M) 21. November 2000 (2000-11-21)	14-20
A	Spalte 4, Zeile 20 -Spalte 5, Zeile 60 ---	1-13,21
P,A	DE 100 63 984 A (BILATEC GES ZUR ENTWICKLUNG BI) 20. Juni 2002 (2002-06-20) Seite 6, Zeile 29-45; Abbildungen 14,15 -----	1-21

INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/12411

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0905520	A	31-03-1999	EP 0905520 A1	31-03-1999
			JP 11156231 A	15-06-1999
EP 0589636	A	30-03-1994	EP 0589636 A1	30-03-1994
			AT 195081 T	15-08-2000
			CA 2106640 A1	25-03-1994
			DE 69329135 D1	07-09-2000
			DE 69329135 T2	11-01-2001
			JP 6198214 A	19-07-1994
			US 5976369 A	02-11-1999
			US 5458785 A	17-10-1995
			US 5897783 A	27-04-1999
US 5705062	A	06-01-1998	AT 212723 T	15-02-2002
			CA 2131843 A1	18-03-1995
			DE 59410037 D1	14-03-2002
			EP 0644425 A1	22-03-1995
			ES 2170083 T3	01-08-2002
			JP 2825768 B2	18-11-1998
			JP 7181188 A	21-07-1995
US 6187270	B1	13-02-2001	DE 4423878 A1	11-01-1996
			DE 59510148 D1	16-05-2002
			EP 0691541 A2	10-01-1996
			JP 2729034 B2	18-03-1998
			JP 8052378 A	27-02-1996
US 6150182	A	21-11-2000	KEINE	
DE 10063984	A	20-06-2002	DE 10063984 A1	20-06-2002